

梨矮化中间砧 S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 的离体培养研究

罗 娅 汤浩茹* 李秀梅 王小蓉

(四川农业大学林学院园艺学院, 四川雅安 625014)

摘 要: 以梨矮化中间砧 S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 试管苗为试材, 探讨了培养基和植物生长调节剂对梨矮化中间砧试管苗增殖和生根的效应。其结果表明: MS 培养基较 QL、AS 和 WPM 培养基更有利于中间砧茎的增殖, 2~3 mg·L⁻¹6-BA、0.1~0.2 mg·L⁻¹IBA 和 1~2 mg·L⁻¹GA₃ 组合能有效促进 S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 试管苗的增殖, 其增殖倍数达 3.71~5.83。综合各品种增殖倍数、茎高度以及茎质量等指标表明, MS+3.0 mg·L⁻¹6-BA+0.2 mg·L⁻¹IBA+2.0 mg·L⁻¹GA₃ 是 S₂ 的最佳增殖培养基; MS+2.0 mg·L⁻¹6-BA+0.1 mg·L⁻¹IBA+1.0 mg·L⁻¹GA₃ 是 S₅ 和 PDR₅₄ 增殖的最佳培养基。同时, S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 增殖的试管苗在不同的生根条件下分别获得了 67%、50% 和 86% 的生根率。

关键词: 梨; 矮化中间砧; 快繁

中图分类号: S 661.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2006) 05-1063-04

Study on Tissue Culture in Vitro of Pear Dwarfing Interstocks S₂, S₅ and PDR₅₄

Luo Ya, Tang Haoru*, Li Xiumei, and Wang Xiaorong

(Forestry and Horticultural College, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

Abstract: The influencing factors of multiplication coefficient, regeneration quality and rooting for adventitious shoots of pear dwarfing interstocks S₂, S₅ and PDR₅₄ were studied. The results showed that the regeneration ability of adventitious shoots was influenced by genotypes, media and plant growth regulators. MS medium was more suitable for the proliferation of S₂, S₅ and PDR₅₄ than QL, WPM and AS media. The middle concentrations of 6-BA (2–3 mg·L⁻¹) in combination with lower concentrations of IBA (0.1–0.2 mg·L⁻¹) and GA₃ (1–2 mg·L⁻¹) could improve the proliferation of all the three interstocks, with proliferation index of shoots from 3.71 to 5.83. The best medium for S₂ was MS+3.0 mg·L⁻¹6-BA+0.2mg·L⁻¹IBA+2.0 mg·L⁻¹GA₃, while MS+2.0 mg·L⁻¹6-BA+0.1 mg·L⁻¹IBA+1.0 mg·L⁻¹GA₃ was the optimal for S₅ and PDR₅₄ proliferation in comparison of the comprehensive index of shoot quality, numbers and lengths. The regenerated shoots were rooted with a rooting percentage of 67%, 50% and 86% respectively for S₂, S₅ and PDR₅₄.

Key words: Pear; Dwarfing interstock; Rapid propagation

1 目的、材料与方法

利用矮化砧或矮化中间砧是世界各国在果树矮化栽培中采用最多收效最显著的方式之一。S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 是中国农业科学院果树研究所贾敬贤等^[1,2] 选育的梨优良矮化中间砧, 但由于生根困难, 影响了其推广速度^[3]。20 世纪 70 年代以后, 梨矮化砧木组织培养的研究有一定的报道^[4-7], 但繁殖系数低, 不能适应生产发展的需要。本试验的目的在于提高梨矮化中间砧 S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 的增殖系数, 探讨不同种类的基本培养基以及不同配比的植物生长调节剂对试管苗增殖的影响, 从而建立起一个较

收稿日期: 2005-09-01; 修回日期: 2006-03-09

基金项目: 高等学校全国优秀博士学位论文作者专项基金资助 (200253); 教育部新世纪优秀人才支持计划项目 (NCET-04-0905)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: htang@sicau.edu.cn)

为完善的梨矮化中间砧离体培养体系, 为其在生产中广泛应用提供可靠的技术与理论依据。

试验以 2003 年用 PDR₅₄ (*Pyrus ussuriensis* × *P. communis*)、S₂ (*P. ussuriensis*) 和 S₅ (*P. ussuriensis*) 茎尖获得的无菌试管苗为试材, 并根据前人的相关研究^[8,9]和本实验室的前期试验结果, 按照 4 × 4 正交试验设计方法, 选用 MS、AS、QL 和 WPM 等 4 种基本培养基以及不同浓度的 6-BA、IBA 和 GA₃ 进行矮化中间砧离体培养的研究 (表 1)。其中蔗糖 30.0 g · L⁻¹, 琼脂粉 6.0 g · L⁻¹, 水解酪蛋白 (CH) 250 mg · L⁻¹, 培养温度 25℃, 光强 4 800 lx, 光照时间 16 h · d⁻¹。每处理接种 8 瓶, 每瓶接种 4 株苗, 试验重复 3 次。35 d 后统计增殖倍数 (≥0.5 cm 的芽苗总数/接种时总芽数)、平均茎高度差 (35 d 苗主干高与接种时苗主干高的平均高度差) 和平均茎鲜质量。数据采用 DPSv3.01 统计分析软件进行极差分析。

2 结果分析与讨论

2.1 基本培养基对试管苗增殖的影响

在 16 个处理中, 3 品种的增殖能力差异较大, 增殖倍数在 0.76 ~ 5.83 之间 (表 1)。Kauppinen^[10] 研究认为基因型是影响茎增殖的重要因素。在本试验中, S₅ 的分化能力最强, 接种 5 ~ 7 d 后就开始进行芽的分化, 而 S₂ 和 PDR₅₄ 芽的分化较之晚 3 ~ 4 d。接种后 35 d, S₅ 的增殖倍数高达 5.83, 而 S₂ 和 PDR₅₄ 的最大增殖倍数分别是 3.88 与 3.71。将试验结果进行极差分析表明, S₂ 在 AS 培养基中增殖倍数最高, 而 S₅ 和 PDR₅₄ 在 MS 中增殖表现较好 (表 2)。虽然 S₂ 在 AS 培养基中有较高的增殖倍数, 但茎质量差, 叶片发黄并卷曲; S₂ 在 MS 培养基中增殖倍数稍低于 AS, 但茎健壮, 叶片翠绿。在试验过程中, 我们发现各砧木品种在高盐培养基 MS 中产生的茎叶片大, 叶色浓绿, 茎健壮, 生长速度快; 在低盐培养基 WPM 中产生的叶片小, 叶色黄绿, 生长速度慢; 在中盐培养基 QL 中产生的茎各项指标均介于 MS 与 WPM 培养基之间, 茎较壮, 叶色翠绿; 在 AS 培养基中, 试管苗叶片发黄, 卷曲, 生长非常缓慢。综合 3 个品种在不同培养基中的生长表现认为, 适合 3 个砧木增殖的基本培养基是 MS。

表 1 梨矮化中间砧 S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 的离体增殖 4 × 4 正交试验方案与结果统计

Table 1 Treatments and statistics of orthogonal experiment on the proliferation in vitro of pear dwarfing interstocks S₂, S₅ and PDR₅₄

编号 No.	基本 培养基 Basic media	浓度 Concentration (mg · L ⁻¹)			S ₂			S ₅			PDR ₅₄		
		6-BA	IBA	GA ₃	增殖 倍数 Proliferous index	茎鲜 质量/株 FM/per shoot (g)	茎高度差 Height difference of shoots (cm)	增殖 倍数 Proliferous index	茎鲜 质量/株 FM/per shoot (g)	茎高度差 Height difference of shoots (cm)	增殖 倍数 Proliferous index	茎鲜 质量/株 FM/per shoot (g)	茎高度差 Height difference of shoots (cm)
1	1(MS)	1(1.0)	1(0)	1(0)	1.35	0.297	0.73	3.06	0.327	0.47	1.42	0.376	1.11
2	1	2(2.0)	2(0.1)	2(1)	2.00	0.381	1.79	5.67	0.826	0.71	3.71	0.461	1.40
3	1	3(3.0)	3(0.2)	3(2)	3.88	0.596	1.53	5.83	0.829	1.20	2.71	0.561	1.55
4	1	4(5.0)	4(0.4)	4(4)	1.17	0.249	0.72	2.94	1.183	2.04	3.60	0.627	1.33
5	2(AS)	1	2	3	2.52	0.387	0.64	2.44	0.377	0.54	0.76	0.179	0.38
6	2	2	1	4	2.45	0.255	0.46	3.64	0.442	0.78	2.99	0.657	0.81
7	2	3	4	1	2.22	0.311	0.72	3.44	0.433	0.64	1.10	0.442	0.83
8	2	4	3	2	1.48	0.255	0.35	3.00	0.465	0.76	1.52	0.397	0.58
9	3(WPM)	1	3	4	0.85	0.153	0.29	2.08	0.387	0.46	2.29	0.358	0.49
10	3	2	4	3	1.92	0.233	0.32	3.50	0.484	0.95	1.59	0.231	0.48
11	3	3	1	2	2.00	0.255	0.41	3.00	0.509	0.98	2.46	0.365	0.99
12	3	4	2	1	1.63	0.221	0.35	3.18	0.678	1.02	2.12	0.303	0.45
13	4(QL)	1	4	2	1.17	0.211	0.65	4.06	0.559	1.22	2.29	0.353	1.53
14	4	2	3	1	2.54	0.313	0.64	4.75	0.545	1.53	2.55	0.418	1.68
15	4	3	2	4	2.70	0.319	0.84	3.64	0.623	1.84	3.08	0.482	1.38
16	4	4	1	3	2.04	0.271	1.18	2.83	0.681	1.32	3.32	0.572	1.30

2.2 植物生长调节剂对试管苗增殖的影响

极差分析表明, 6-BA、IBA 和 GA₃ 三者比较, 6-BA 对梨矮化砧木增殖的影响较大, 其次是 IBA 和 GA₃ (表 2)。在各浓度配比下, S₂ 在 6-BA 3.0、IBA 0.1 和 GA₃ 2.0 mg · L⁻¹, S₅ 在 6-BA 2.0、IBA 0.2 和 GA₃ 1.0 mg · L⁻¹, PDR₅₄ 在 6-BA 2.0、IBA 0.1 和 GA₃ 4.0 mg · L⁻¹ 时的增殖效果最好。同时茎的增殖与鲜质量随 6-BA 浓度的升高而增加, 但 6-BA 浓度过高 (5.0 mg · L⁻¹), 则会在叶腋处形成大量 0.5 cm 左右长度的无效茎, 且玻璃化现象非常严重。这与王乔春^[8] 和 Ascension 等^[11] 的研究结果相似。

表 2 基本培养基和植物生长调节剂对梨矮化中间砧 S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 离体增殖的极差分析
Table 2 Discrepancy analysis of the basic media and plant growth regulators on the proliferation in vitro of pear dwarfing interstocks S₂, S₅ and PDR₅₄

增殖倍数 Proliferous multiple	S ₂				S ₅				PDR ₅₄			
	基本培养基 Basic media	6-BA	IBA	GA ₃	基本培养基 Basic media	6-BA	IBA	GA ₃	基本培养基 Basic media	6-BA	IBA	GA ₃
L ₁	8.40	5.57	7.84	6.74	17.50	11.64	12.73	14.43	11.44	6.76	8.19	7.19
L ₂	8.67	8.91	8.85	6.65	12.52	17.56	14.93	15.73	5.37	10.84	9.67	9.98
L ₃	6.40	10.80	8.75	10.36	11.76	15.91	15.66	14.60	8.46	9.35	9.07	8.38
L ₄	8.45	3.67	6.18	7.17	15.28	11.95	13.94	12.30	11.24	10.58	8.58	11.96
R	0.419	0.446	0.267	0.347	0.567	0.537	0.261	0.101	0.568	0.372	0.136	0.363

注: L 代表各处理水平上增殖倍数总和; R 代表处理中最大增殖倍数与最小增殖倍数之差。

Note: L stands for the sum of proliferous multiple in all deal; R stands for the discrepancy between maximum proliferous multiple and minimum proliferous multiple in deal.

试验中我们还发现, 在培养基中添加一定浓度的 IBA 和 GA₃ 可促进茎的增殖和试管苗高度的增加。表 1 的试验结果分析表明: 在 16 个处理中, 培养基中若只加入 6-BA (处理 1), S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 平均增殖倍数分别为 1.35、3.06 和 1.42, 平均茎高度差分别为 0.73、0.47 和 1.11 cm; 若培养基中添加 6-BA 与 IBA (处理 7, 12 和 14), 平均增殖倍数分别为 2.13、3.79 和 1.92, 茎高度差分别为 0.57、1.06 和 0.99 cm; 若培养基中添加 6-BA 与 GA₃ (处理 6, 11 和 16), 平均增殖倍数分别为 2.16、3.16 和 2.92, 茎高度差分别为 0.68、1.03 和 1.03 cm; 若 6-BA, IBA 与 GA₃ 同时加入培养基中 (处理 2、3、4、5、8、9、10、13 和 15), 3 品种的平均增殖倍数分别为 1.97、3.68 和 2.39, 平均茎高度差分别是 0.79、1.19 和 1.01 cm。由此可见, 3 种生长调节剂共同配合使用不仅能促进试管苗茎的分化, 同时还能促进茎的伸长, 这对下一步生根试验是非常必要的。因为在培养过程中, 梨矮化砧木试管苗反映出自身生物学特征, 生长特别矮小而紧凑。因此, 提高试管苗高度对后期生根非常必要。

综合各品种增殖倍数、茎高度差以及茎鲜质量等指标认为, 3 号处理 MS + 3.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.2 mg · L⁻¹ IBA + 2.0 mg · L⁻¹ GA₃ 是 S₂ 较适合的增殖条件, 2 号处理 MS + 2.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.1 mg · L⁻¹ IBA + 1.0 mg · L⁻¹ GA₃ 是 S₅ 和 PDR₅₄ 较适合的增殖条件。

2.3 试管苗的生根

采用正交试验设计, 长约 2 cm、生长健壮的单苗进行生根试验表明: S₂、S₅ 和 PDR₅₄ 分别在 1/2 QL + 5.0 mg · L⁻¹ IBA + 5.0 g · L⁻¹ 蔗糖, 1/2MS + 5.0 mg · L⁻¹ IBA + 15.0 g · L⁻¹ 蔗糖和 1/4MS + 2.5 mg · L⁻¹ IBA + 15.0 g · L⁻¹ 蔗糖的生根培养基中暗培养 10 d 后再分别转入 1/2QL + 5.0 g · L⁻¹ 蔗糖 + 0.5 g · L⁻¹ AC、1/2MS + 15.0 g · L⁻¹ 蔗糖 + 1.0 g · L⁻¹ AC 和 1/4MS + 2.5 mg · L⁻¹ IBA + 15.0 g · L⁻¹ 蔗糖 + 1.0 g · L⁻¹ AC 的培养基上培养 20 d, 其生根率分别为 67%、50% 和 86%。

参考文献:

1 贾敬贤, 陈长兰, 龚欣. 梨属矮化中间砧选择初报. 北方果树, 1991 (3): 13~15

Jia J X, Chen C L, Gong X. The first choose report on dwarfing rootstock of pear genus. Northern Fruits, 1991 (3): 13~15 (in Chinese)

- 2 陈长兰, 龚欣, 贾敬贤. 梨中间砧早期丰产及矮化性能试验. 中国果树, 1996 (3): 24~25
Chen C L, Gong X, Jia J X. Experiment of forepart fertility and dwarfing performance on pear dwarfing interstock. China Fruits, 1996 (3): 24~25 (in Chinese)
- 3 贾敬贤. 梨树矮化密植栽培. 北京: 金盾出版社, 1995. 26~28
Jia J X. The dwarfing and high density cultivate of pear trees. Beijing: Jindun Publication House, 1995. 26~28 (in Chinese)
- 4 罗娅, 汤浩茹. 梨矮化砧木选育与离体繁殖研究进展. 中国南方果树, 2004 (4): 46~49
Luo Y, Tang H R. Developments in the research of breeding and tissue culture of dwarfing rootstock of pear. South China Fruits, 2004 (4): 46~49 (in Chinese)
- 5 孟庆田, 赵惠祥, 顾乃良. 紧凑型矮化梨组织培养获得完整试管苗. 天津农林科技, 1994 (1): 3~5
Meng Q T, Zhao H X, Gu N L. Obtaining of compact and dwarf pear intact plant through tissue culture. Science and Technology of Tianjin Agriculture and Forestry, 1994 (1): 3~5 (in Chinese)
- 6 陈荃, 高彦明, 赵占军. 诱导梨矮化砧木 OH × F₅₁ 试管苗生根的正交试验. 兰州大学学报 (自然科学版), 2001, 37 (1): 71~75
Chen Q, Gao Y M, Zhao Z J. Orthogonal experiment for induced rooting of pear dwarfing—stock OH × F₅₁ in vitro. Journal of Lanzhou University (Natural Sciences), 2001, 37 (1): 71~75 (in Chinese)
- 7 刘利民, 蒲莉玲. 植物生长调节剂对梨矮砧木 M51 离体芽生长的影响. 天水师专报, 1999 (1): 65~66
Liu L M, Pu L L. Effect of plant growth regulators on the shoot in vitro growth of pear dwarfing stock M51. Journal of Tianshui Normal University, 1999 (1): 65~66 (in Chinese)
- 8 王乔春. 培养基种类对梨试管苗茎增殖的影响. 四川农业大学学报, 1993, 11 (1): 77~81
Wang Q C. The role of media in shoot multiplication of pear cultured in vitro. Journal of Sichuan Agricultural University, 1993, 11 (1): 77~81 (in Chinese)
- 9 王乔春. 植物生长调节剂对梨试管苗培育及移栽的影响. 果树科学, 1995, 12 (1): 15~20
Wang Q C. Effect of plant growth regulators on micropropagation and in vitro - derived plantlet transplantation of pear rootstock BP10030. Journal of Fruit Science, 1995, 12 (1): 15~20 (in Chinese)
- 10 Kquppinen S. Optimizing shoot proliferation and rooting of micropropagation Japanese quince [*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach]. Acta Horticulturae, 2001, 560: 433~436
- 11 Ibanez A, Valero M, Morte A. Influence of cytokines and subculturing on proliferation capacity of single-axillary-bud microcuttings of *Vitis vinifera* L. cv. Napoleón. Anales de Biología, 2003, 25: 81~90

欢迎订阅 2007 年《植物营养与肥料学报》

本刊为中国植物营养与肥料学会主办, 国内外公开发行的专业性学术刊物。属中国科技核心期刊; 中文核心期刊。为国家科技部“中国科技论文统计源期刊”以及《中国学术期刊综合评价数据库》、《中国科学引文数据库》和《美国化学文摘》来源期刊。近年来, 本刊的学术水平和编辑质量稳步上升, 影响因子、总被引频次居全国农业科技期刊前列。荣获了第四届全国优秀农业期刊学术类一等奖。本刊主要报道本学科具有创见性的学术论文、新技术和新方法、研究报告、简报、文献评述和问题讨论等。其主要包括土壤、肥料和作物间的关系, 养分变化和平衡; 各种肥料在土壤中的变化规律和配施原理; 农作物遗传种质特性对养分反应; 作物根际营养; 施肥与环境; 施肥与农产品品质; 农业生物学和生物化学应用; 肥料的新剂型新品种的研制、应用及作用机理; 本学科领域中新手段、新方法的研究以及与本学科相关联的边缘学科等。

2007 年的《植物营养与肥料学报》, 为双月刊, 大 16 开本, 页码增至 160 页, 单月 25 出版, 定价 20 元, 全年 120 元。邮发代号: 82-169。可通过全国各地邮局办理 2007 年订阅手续。也可直接汇款到本刊编辑部办理订阅。

地址: 100081 北京市中关村南大街 12 号 中国农科院资源区划所《植物营养与肥料学报》编辑部; 电话: 010-68918653; Email: zwyf@caas.ac.cn; zwyf@chinajournal.net.cn